

УДК 612.112.94.001

## ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ ВИКОРИСТАННЯ РІЗНИХ ЕРИТРОЦИТІВ В ЯКОСТІ МАРКЕРІВ В РЕАКЦІЇ РОЗЕТКОУТВОРЕННЯ ПІД ЧАС КОНТРОЛЮ ЗА ІМУНОФІЗІОЛОГІЧНИМ СТАНОМ ОРГАНІЗМУ СОБАК

Брошков М. М., Стус С.П.

Одеський державний аграрний університет

*У статті представлені дані порівняльного аналізу визначення кількості Т-лімфоцитів та їх імунорегуляторних субпопуляцій з використанням методу розеткоутворення та використання еритроцитів барана та людини в якості маркерів. Показано, що у практично здорових собак значних відмінностей абсолютної кількості Т-лімфоцитів та їх імунорегуляторних субпопуляцій в периферичній крові, залежно від маркерів імунофенотипування, не відзначається. Згідно з отриманими даними слід зазначити, що використання еритроцитів барана в якості маркерів, при проведенні оцінки імунофізіологічного стану є об'єктивним у контролі за станом імунної системи організму собак та оцінки ступеня дисфункції і проведення засобів імунокорекції.*

**Ключові слова:** собаки, імунітет, Т-лімфоцит, Т-хелпер, Т-супресор, імунофенотипування

**Вступ.** В теперішній час в ветеринарній клінічній практиці найбільш актуальним стає імунологічне дослідження крові. Відомо, що найбільш інформативними тестами, які характеризують потенціальну здатність системи імунітету до адекватної імунної відповіді є аналіз кількості Т-і В-лімфоцитів, активованих Т-лімфоцитів в периферичній крові тварин. Протягом останніх 40 років найбільш важливим показниками кількісної характеристики популяції Т-і В-лімфоцитів вважалось кількість Е-розеткоутворюючих та Ем-розеткоутворюючих клітин, метод яких базується на факті наявності поверхневих рецепторів лімфоцитів з гетерологічними еритроцитами (для Т-лімфоцитів – це еритроцити барана (Е-РУК), для В-лімфоцитів-еритроцити миші (Ем-РУК) [1-3].

Відкриття гібридомної технології отримання моноклональних антитіл і впровадження в практику клініко-діагностичних лабораторій автоматичного аналізу на базі цитофлуориметрії сприяло поступовому витисненню розеточних тестів. В теперішній час антигени CD3 (Т-лімфоцити) і CD 19 (В-лімфоцити), разом з CD4 (Т-лімфоцити- хелпери\ індуктори), CD8 (Т-лімфоцити-супресори\цитотоксичні), CD16 (натуральні кілери) є основними маркерами для кількісної оцінки популяційного і субпопуляційного складу лімфоцитів, по їх експресії судять, наскільки лімфоцит здатен регулювати процеси своєї активації і ефекторні функції [4-6].

Але тест спонтанного розеткоутворення не обмежується лише підрахунком Т-і В-клітин. Модифікації цього тесту дозволяють легко характеризувати модуляцію експресії поверхневих структур лімфоциту *in vitro* під впливом різних стимулів, оскільки кількість розетко утворюючих клітин може швидко

змінюватись під впливом багатьох сполук: медіаторів нервової системи, ендогенних і екзогенних імуномодуляторів, гормонів, мікроелементів тощо [7-10].

Тести розеткоутворення широко використовуються для визначення функціональної активності імунної системи у сільськогосподарських тварин. Публікацій відносно використання цих тестів для дослідження імунітету у хатніх тварин обмаль. Крім того за даними Г.Фрімеля 1984, при визначенні активності лімфоцитів та їх субпопуляцій в реакції розеткоутворення у собак, використовують еритроцити людини [11].

Метою наших досліджень було порівняльна оцінка показників імунофізіологічного стану організму собак з використанням методу розеткоутворення з еритроцитами барана та людини.

**Матеріали та методи досліджень.** Досліджено 20 практично здорових собак службових порід. Для дослідження використовували периферійну стабілізовану кров собак. Тварини були поділені на дві групи, за принципом аналогів. В першій групі оцінювали імунофізіологічний стан методом розеткоутворення з використанням еритроцитів барана. В другій групі оцінювали показники імунофізіологічного стану методом розеткоутворення з використанням еритроцитів людини (IV- групи крові). В кожній групі дослідженню піддавалися 15 голів. В крові визначали абсолютну кількість лейкоцитів Т-активних лімфоцитів в реакції розеткоутворення з еритроцитами барана (Е теофілінчутливі – розетко утворюючи лімфоцити), В-лімфоцити в реакції розеткоутворення з еритроцитами миші, відносну кількість розеткоутворюючих нейтрофілів (Е -РУН) за методикою (). Підрахунок імунокомпетентних клітин проводили на 100 клітин лімфоїдного ряду.

**Результати досліджень.** Як показали результати досліджень (табл.) в крові практично здорових собак імунофізіологічний статус яких досліджений методом розеткоутворення з використанням еритроцитів барана (група 1) абсолютна кількість Т-лімфоцитів становила в середньому  $1,012 \pm 0,273$  Г\л. А при дослідженні цього показника з використанням еритроцитів людини він становив  $0,985 \pm 0,170$  Г\л. Різниця цього показника, за використання різних еритроцитів, знаходиться в межах 10%.

Порівняння абсолютної кількості Т-хелперних та Т-супресорних лімфоцитів, за використання еритроцитів барана та людини показало, що різниця також знаходилась в межах 10%. Так при використанні еритроцитів барана в реакції розеткоутворення, для визначення абсолютної кількості Т-хелперних клітин цей показник становив  $0,907 \pm 0,273$  Г\л проти  $0,885 \pm 0,135$  Г\л ( $p < 0,05$ ) за використання в якості маркерів еритроцитів людини.

Кількісна оцінка Т-лімфоцитів з супресорною активністю характеризувалася тим, що не залежно від використаних еритроцитів, в якості маркерів, міжгрупова різниця суттєво не відрізнялася і не перебільшувала 7% ( $p < 0,01$ ).

## Таблиця

**Результати кількісного визначення лімфоїдних клітин у практично здорових собак різного віку, досліджених за методами розеткоутворення з використанням еритроцитів барана та людини**

Показники абсолютного вмісту лімфоїдних клітин	Групи тварин	
	З використанням еритроцитів барана 1-а група (n=10)	З використанням еритроцитів людини 2-га група (n=10)
T-лімфоцити, Г\л	1,012±0,273	0,985±0,170*
T-хелпери, Г\л	0,907±0,273	0,885±0,135*
T-супресори, Г\л	0,275±0,03	0,250±0,020**
Імунорегуляторний індекс	3,95±0,171	5,04±0,35
B-лімфоцити, Г\л	0,308±0,015	0,290±0,023

Примітка: \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$  порівняння між групами

Оцінка показника імунорегуляторного індексу дослідних груп показало, що цей показник мав виражену різницю. Так в першій дослідній групі цей показник в 1,5 рази був менший ніж у собак в другій дослідній групі. Слід зазначити, що імунорегуляторний індекс є інтегральним показником, за яким оцінюють ступінь напруженості імунітету і активність основних імунорегуляторних субпопуляцій лімфоцитів.

### **Висновки.**

Виходячи з проведених досліджень аналізу визначення кількості T-лімфоцитів методом розеткоутворення за використання еритроцитів барана та людини в якості маркерів, слід зазначити, що суттєвої різниці в показниках абсолютної кількості T-лімфоцитів та їх імунорегуляторних субпопуляції з хелперною та супресорною активністю не встановлено. Отже, такі маркери як еритроцити барана можуть бути використані в імунологічних реакціях для оцінки імунофізіологічного статусу організму собак.

### **Список літератури.**

1. Влізло, В.В. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині / В. В. Влізло // Львів: СПОЛОМ, 2012. – С. 234–237
2. Донник, И. М. Экология и здоровье животных / И. М. Донник, П. Н. Смирнов. — Екатеринбург: УТК, 2001. — 331 с.
3. Дрожжина, Г. И. Состояние иммунологической реактивности организма у больных с наследственными стромальными дистрофиями роговицы и ее особенности при наличии воспалительного компонента / Г. И. Дрожжина, Т. В. Дегтяренко // Офтальмологічний журнал. – 2004. – № 5. – С. 10–16.
4. Лебедев, К. А. Иммунология образраспознающих рецепторов: Интегральная иммунология / К. А. Лебедев, И.Д. Понякина // М.: Книжный дом «ЛИБРОКОМ», 2013. – 256 с.
5. Новиков, Д. К. Медицинская иммунология / Д. К. Новиков // Минск.: «Высшая школа», 2005. – С. 116–119.
6. Новиков, Д. К. Оценка иммунного статуса / Д. К. Новиков, В. И. Новикова // Витебск–Москва: Высшая школа, 1996. – С. 90–97.
7. Покровский, В. И. Приобретенный иммунитет и инфекционный процесс / В. И.

- Покровский, М. М. Авербах, В. И. Литвинов, И. В. Рубцов // М.: Медицина, 1979. – С. 189–213.
8. Ройт, А. Основы иммунологии / А. Ройт // М.: Эксмо, 1996. – С. 127–167. 6. Хаитов, Р. М. Иммунология / Р. М. Хаитов, Г. А. Игнатъева, И. Г. Сидорович// М.: Эксмо.2000. – С. 57–64.
- 9.Чередеев А.Н. CD-маркеры в практике клинико-диагностических лабораторий/ Чередеев А.Н., Горлина Н.К., Козлов И.Г.- Клин.лаб.диагностика.-1999.-№6.-С25-329.
- 10.Ярилин, А. А. Иммунология / А. А. Ярилин // М.: Медицина, 1999. –С. 76–83.
11. Фримель Г. Иммунологические методы/ Г.Фримель, А.П.Тарасов. – М: Медицина, 1987. – 472 с.

***Сравнительный анализ использования различных эритроцитов в качестве маркеров в реакции розеткообразования в контроле за иммунофизиологическим состоянием организма собак. Брошков М. М., Стус С.П.***

*В статье представлены данные сравнительного анализа определения количества Т-лимфоцитов и их иммунорегуляторных субпопуляций с использованием метода розеткообразования и использования эритроцитов барана и человека в качестве маркеров. Показано, что у практически здоровых собак значимых различий абсолютного количества Т-лимфоцитов и их иммунорегуляторных субпопуляций в периферической крови, в зависимости от маркеров иммунофенотипирования, не отмечается. Согласно полученным данным следует отметить, что использование эритроцитов барана в качестве маркеров, при проведении оценки иммунофизиологического состояния является объективным в контроле за состоянием иммунной системы организма собак и оценки степени дисфункции и проведения средств иммунокоррекции.*

***Ключевые слова:*** собаки, иммунитет, Т-лимфоциты, Т-хелперы, Т-супрессоры, иммунофенотипирование.

***Comparative analysis of the use the various red blood cells as markers in the reaction rosettecreation in monitoring the immunophysiological condition of the dogs organism. Broshkov M., Stus S.***

*The article presents comparative data analysis determining the number of T-lymphocytes and their immunoregulatory subpopulations in rosettecreation method using sheep and human erythrocytes as markers. It is shown that in healthy dogs significant difference absolute number of T-lymphocytes and their immunoregulatory subpopulation in peripheral blood, depending on immunophenotyping markers were observed. According to the data obtained it should be noted that the use of erythrocytes as markers in assessing the state immunophysiological objective is to monitor the state of the immune system of the dogs body and evaluate the degree of dysfunction and immune agents.*

***Keywords:*** dogs, immunity, T-lymphocytes, T-helpers and T-suppressors, immunophenotyping